

SYSTEM FOR PURIFYING A POLLUTED MATERIAL CONTAINING DIOXINS, METHOD FOR PURIFYING THE POLLUTED MATERIAL, AND PREPARATION FOR DECOMPOSING DIOXINS

発明の背景

発明の分野

本発明は、ダイオキシン類を含む汚染物中のダイオキシン類を、微生物の菌体破砕物又はその分画物によって水系媒体中で分解する汚染物の浄化システム及び浄化方法、及び汚染物の浄化に用いられるダイオキシン類分解用製剤に関する。

関連技術の記載

現在では、焼却炉等のダイオキシン類が発生する施設の運転や管理については法律で規制されており、ダイオキシン類の発生が防止されている。しかしながら、前記法律の規制値に適合しない既存の施設では、解体や改良等の作業が必要とされている。このような作業では、ダイオキシン類を含有する汚染物が様々な形態で発生する。このような汚染物中のダイオキシン類を分解して汚染物を浄化しようとする好ましい技術としては、微生物を利用してダイオキシン類を分解しようとする技術が知られている。

微生物を利用してダイオキシン類を分解しようとする技術としては、例えば、ダイオキシン類含有液中のダイオキシン類を固体に吸着又は収着させて捕捉して濃縮する一次工程と、ダイオキシン類が濃縮された前記固体を含む処理液を固液分離して、ダイオキシン類が除去された分離水と濃縮スラリーを得る二次工程と、前記濃縮スラリーを生物処理して、濃縮スラリー中のダイオキシン類を分解する三次工程と、を少なくとも含み、この三次工程における生物処理では木材腐朽菌又は／及び木材腐朽菌の生産酵素を利用するダイオキシン類含有液の処理方法が知られている（例えば、特開２００２－２８６９５号公報参照。）。

また、微生物を利用してダイオキシン類を分解しようとする技術としては、例

えば、ダイオキシン類により汚染された焼却場設備を周囲環境から遮断し、前記焼却場設備の内面にダイオキシン類分解能を有する微生物と被膜形成性の固定化剤とを含む組成物を付着させ、前記焼却場設備を解体することを特徴とし、好ましい前記微生物として担子菌類の白色腐朽菌等の木材腐朽菌が用いられる、ダイオキシン類汚染構造物の解体工法が知られている（例えば、特開 2001-90353 号公報参照。）。

また、ダイオキシン類を分解する微生物としては、バチルス・ミドウスジ (*Bacillus midousuji*、御堂筋菌) が知られており（例えば、保科定頼、外 3 名、「好熱菌によるダイオキシン類分解実験および遺伝子解析」、第 10 回廃棄物学会研究発表会講演論文集 I I、廃棄物学会、1999 年 10 月 10 日、p. 883-885 参照。）、バチルス・ミドウスジを利用した汚染物の浄化技術が知られている（例えば、特開 2002-301466 号公報参照。）。

しかしながら、従来の技術では、使用する菌やその生産酵素によっては、3 塩素化以上のダイオキシン類に対して分解活性が失われることがある。これは、ダイオキシン類の骨格構造に結合する塩素による立体障害によって、菌が生産する酵素が脱塩素等のダイオキシン類の分解に作用することができず、失活するためと考えられている。

また、現在では、ダイオキシン類を含有する汚染物の取り扱いについても法律によって細かく規定されている。このため、処理場等の施設に汚染物を搬送することなく、汚染物の発生現場でダイオキシン類を分解することが望まれている。しかしながら、汚染物の発生現場において菌を用いてダイオキシン類を分解する場合では、汚染物の発生現場や汚染物の浄化過程において菌が生存できる環境を形成（温度や pH、塩濃度の調整や培地の使用等）する必要があり、浄化システムの簡易化や効率の向上等の点で検討の余地が残されている。

発明のサマリー

本発明は、汚染物中の 3 塩素化以上のダイオキシン類を分解することが可能であり、かつ焼却施設の洗浄作業や解体作業等のダイオキシン類が発生する現場に

において、汚染物を容易に浄化することを課題とする。

本発明者らは、芳香族環に結合する酸素原子を有する置換基と芳香族環に結合するクロロ基とを有する塩素化芳香族化合物の存在下で培養されたバチルス・ミドウスジ (*Bacillus midousuji*、以下「御堂筋菌」ともいう) の菌体膜を含む菌体破砕物が、3 塩素化以上のダイオキシン類をも分解することを見出し、本発明に至った。

すなわち、本発明は、ダイオキシン類を含有する汚染物中のダイオキシン類を分解して汚染物を浄化するシステムにおいて、芳香族環に結合する酸素原子を有する置換基と芳香族環に結合するクロロ基とを有する塩素化芳香族化合物の存在下で培養されたバチルス・ミドウスジの菌体膜を含む菌体破砕物又はその分画物(以下、菌体破砕物又はその分画物のことを「菌体破砕物等」ともいう)、汚染物、及び水系媒体を少なくとも収容した反応槽を有する汚染物の浄化システムである。

御堂筋菌の菌体膜を含む菌体破砕物等は、後述する検討結果から明らかなように、ダイオキシン類の特徴的なエーテル結合を切断する。したがって、前記構成によれば、前記菌体破砕物等と前記汚染物とが反応槽中において、塩素化数に関わらずダイオキシン類を分解することが可能である。また、前記構成によれば、前記菌体破砕物等が用いられることから、微生物を用いる浄化技術に比べて、微生物の生存や微生物の活性を維持するための設備や厳密な環境の維持を必要としない。したがって汚染物の浄化の管理が容易であり、汚染物を容易に浄化することが可能である。

また、本発明の浄化システムは、反応槽中の収容物から水系媒体と固形物とを分離して水系媒体を取り出すためのろ過手段を有することが好ましい。このような構成によれば、反応槽中の収容物から水系媒体のみを取り出すことができ、反応槽中の収容物における汚染物の濃度が容易に制御されることから、前記菌体破砕物等と前記汚染物との接触性を制御し、汚染物の浄化効率を高める上で好ましい。

また、本発明の浄化システムは、汚染物の発生源を隔離する隔離手段と、汚染物の発生源の汚染物を少なくとも水に含ませて、汚染物を含有する流体を生成す

る流体生成手段と、汚染物を含有する流体を反応槽に向けて搬送する流体搬送手段とを有することが好ましい。このような構成によれば、汚染物の発生源から汚染物が周辺に飛散することが防止され、また汚染物の搬送途中における汚染物の飛散が防止されることから、焼却炉の解体や焼却施設の跡地の土壌改良等の現場において、ダイオキシン類を含有する汚染物を浄化する上で好ましい。

また、本発明の浄化システムは、流体生成手段は、汚染物の発生源に少なくとも水を噴射して汚染物を洗い流す汚染物洗浄手段であることが好ましい。このような構成によれば、焼却炉の解体や焼却施設の改良工事の際に、これらの設備に付着している汚染物の洗浄排水がそのまま汚染物の浄化に利用されることから、簡易な構成によって汚染物を現場で浄化する上で好ましい。

また、本発明は、ダイオキシン類を含有する汚染物中のダイオキシン類を分解して汚染物を浄化する方法において、芳香族環に結合する酸素原子を有する置換基と芳香族環に結合するクロロ基とを有する塩素化芳香族化合物の存在下で培養されたバチルス・ミドウスジの菌体膜を含む菌体破砕物等と汚染物と水系媒体とを混合する汚染物の浄化方法を提供する。

前記方法によれば、前記菌体破砕物等と前記汚染物とが接触することから、塩素化数に関わらずダイオキシン類を分解することが可能である。また、前記方法によれば、前記菌体破砕物等が用いられることから、微生物を用いる浄化技術に比べて、微生物の生存や微生物の活性を維持するための設備を必要としない。したがって汚染物の浄化における条件の管理が容易であり、汚染物を容易に浄化することが可能である。

また、本発明の浄化方法は、混合物中から固形物と水系媒体とを分離し、固形物が取り除かれた水系媒体を取り出すことが、混合物中の汚染物の濃度を容易に制御し、前記菌体破砕物等と前記汚染物との接触性を制御して汚染物の浄化効率を高める上で好ましい。

また、本発明の浄化方法は、汚染物の発生源を隔離し、隔離した汚染源から発生した汚染物を水に含ませ、この汚染物を含む水に菌体破砕物等を混合することが、汚染物の発生源から周辺への汚染物の飛散、及び汚染物の搬送途中における汚染物の飛散を防止し、焼却炉の解体や焼却施設の跡地の土壌改良等の現場にお

いて汚染物を浄化する上で好ましい。

また、本発明の浄化方法は、汚染物の発生源に水を高圧で噴射して汚染物を洗い流す高圧水洗工法、又は汚染物の発生源に水と砥粒を高圧で噴射して汚染物を洗い流す湿式のサンドブラスト工法で排出される、汚染物を含む水スラリーに菌体破砕物等を混合することが、焼却炉の解体や焼却施設の改良工事の際の汚染物の洗浄排水をそのまま汚染物の浄化に利用し、簡易な設備によって汚染物を現場で浄化する上で好ましい。

本発明は、ダイオキシン類を含有する汚染物中のダイオキシン類を分解して汚染物を浄化する。「ダイオキシン類」とは、ポリ塩素化ジベンゾー p -ダイオキシン、ポリ塩素化ジベンゾフラン、及びコプラナー P C B (ポリ塩化ビフェニル)の全ての総称であり、本発明では、特に断らない限り、これらの化合物の一部又は全部を示す。

本発明では、芳香族環に結合する酸素原子を有する置換基と芳香族環に結合するクロロ基とを有する塩素化芳香族化合物の存在下で培養された御堂筋菌の菌体膜を含む菌体破砕物等が用いられる。御堂筋菌 (*Bacillus midousuji*) は、グラム陽性桿菌であり、発育には 62℃以上の温度を必要とし、90℃でも発育が可能な好熱性の菌である。具体的には、御堂筋菌 (*Bacillus midousuji*) SH2A 株、SH2B-J1 株、及び SH2B-J2 株が挙げられる。このような御堂筋菌の菌株は、独立行政法人産業技術総合研究所に受託番号：ATCC 55926、ATCC 202050として寄託されている。

前記菌体破砕物等を得るための御堂筋菌は、芳香族環に結合する酸素原子を有する置換基と芳香族環に結合するクロロ基とを有する塩素化芳香族化合物の存在下で培養される。本発明で用いられる前記塩素化芳香族化合物は、芳香族環に結合する酸素原子を有する置換基と芳香族環に結合するクロロ基とを有する芳香族化合物であれば特に限定されない。このような化合物としては、例えばダイオキシン類や、塩素化フェノール等の、ダイオキシン類に比べて毒性の低い塩素化芳香族化合物等が挙げられる。

御堂筋菌の培養では、前記塩素化芳香族化合物の一種又は二種以上を用いるこ

とができる。また前記塩素化芳香族化合物の御堂筋菌の培養時における形態は、特に限定されず、精製品の形態であっても良いし、前記塩素化芳香族化合物を含有する組成物の形態であっても良い。前記塩素化芳香族化合物を含有する組成物としては、例えば飛灰や前記塩素化芳香族化合物によって汚染された汚染土壌等が挙げられる。

前記御堂筋菌の培養は、より具体的には、御堂筋菌の栄養源となる液体培地等の培地に、ダイオキシン類又は飛灰等のようなダイオキシン類の含有物、又は前記塩素化フェノール等を混合し、この培地に空気の吹き込み等によって酸素を供給し、培地の温度を御堂筋菌が活動可能な 62℃以上の温度に制御することによって行われる。

御堂筋菌の培養における前記塩素化芳香族化合物の濃度は、ダイオキシン類の分解活性を十分に有する菌体破碎物等を得る観点から、培地に対して 1 ng/L ～ 0.1 ng/L であることが好ましい。また、御堂筋菌の培養における培地には、ダイオキシン類又はダイオキシン類を含有する汚染物等を混合する以外は、バチルス属細菌の培養に通常用いられる培地を用いることができる。前記塩素化芳香族化合物の存在下において御堂筋菌を培養する手段には、例えば特開 2002-301466 号公報に記載されている汚染物の浄化装置を利用することが可能である。

前記御堂筋菌の培養では、御堂筋菌の培養に好適な他の物質を添加することができる。このような他の物質としては、例えば、御堂筋菌の増殖反応を活性化させるカルシウムイオン等の活性化剤、プロテアーゼ活性を阻害することで御堂筋菌の溶菌阻止に作用するジメチルスルホキシド（以下、「DMSO」ともいう）等の溶菌阻止剤、及びイースト、さらに御堂筋菌とダイオキシン類との接触性を高めるために、これらのいずれか一方又は両方を担持するゼオライト粒子等の担体等が挙げられる。

前記御堂筋菌の菌体膜を含む菌体破碎物は、微生物の菌体膜を含む菌体破碎物を得るために通常用いられる方法によって得ることができる。このような方法としては、例えば、超音波、圧搾、細胞膜分解酵素の添加等によって菌体を破碎する工程と、必要に応じて破碎物からの菌体膜分画と細胞質分画とを分離する工程

とを含む方法が挙げられる。前記菌体破砕物は、前記塩素化芳香族化合物の存在下で培養された御堂筋菌の菌体膜が含まれていれば、細胞質等の他の部位の破砕物を含むものであっても良い。

また、前記菌体破砕物の分画物は、ダイオキシン類の分解活性を有するたんぱく質を少なくとも含有し、ダイオキシン類の分解活性を有するたんぱく質を抽出し、又はダイオキシン類の分解活性を有さないたんぱく質を分離することによって得られる。このようなたんぱく質の抽出や分離は、例えば、沈殿法による分離、例えば硫酸沈殿法、クロマトグラフィーによる分離、例えばイオン交換クロマトグラフィー、アフィニティー吸着クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー等、電気泳動法による分離法、及びこれらの方法の任意の組み合わせによって実施することができる。

本発明では、菌体破砕物をそのまま汚染物等と混合して用いることができ、また、たんぱく質やダイオキシン類等の有機化合物に対して吸着能力を有するゼオライトや活性炭、又はハイドロキシアパタイト等の無機担体や、又はアクリルアミドポリマー、アルギン酸やカラギーナン等の有機高分子系担体等の担体に、通常用いられている方法に従って担持させて用いることもできる。菌体破砕物は、御堂筋菌の活動可能な温度で汚染物中のダイオキシン類を分解することが可能であり、また御堂筋菌の活動可能な温度よりも低い温度でも汚染物中のダイオキシン類を分解することが可能である。前記菌体破砕物は、60℃以上のより高温環境で用いることが、汚染物や水系媒体中の雑菌による分解を防止する上で好ましい。

本発明で浄化される汚染物は、ダイオキシン類を含有するものであれば特に限定されない。このような汚染物としては、例えば飛灰（フライ・アッシュ）、ダイオキシン類を含有する土壌、礫、スラリー、液体等が挙げられる。

本発明で用いられる水系媒体は、水又は水を主成分とする流動性の媒体であれば特に限定されない。このような水系媒体としては、例えば培地、御堂筋菌の他の部位の菌体破砕物、前記担体やpH緩衝剤等の他の添加剤等を含む水が挙げられる。

本発明の汚染物の浄化システムは、前記塩素化芳香族化合物の存在下で培養された御堂筋菌の菌体膜を含む菌体破砕物等、ダイオキシン類を含有する汚染物、及び水系媒体を少なくとも収容した反応槽を有する。

前記反応槽は、前記菌体破砕物等、前記汚染物、及び水系媒体を収容できる槽であれば特に限定されない。

また、本発明の汚染物の浄化システムは、好ましくは、反応槽中の収容物から水系媒体と固形物とを分離して水系媒体を取り出すためのろ過手段を有する。ろ過手段は、水系媒体中に含まれる固形物を捕集することが可能な形態であれば特に限定されない。ろ過手段は、水系媒体に含まれる固形物の量や大きさに応じて選択される。このようなろ過手段としては、例えば $50\mu\text{m}\sim0.03\mu\text{m}$ の細孔分布を有するポリエチレンの多孔質膜や中空糸膜を用い、このような膜によって円筒状の両端を塞いだ円柱形状に形成されたものが挙げられる。このようなろ過手段を反応槽中の収容物に水没させることによって、円筒内部に水系媒体のみが排出される。円筒内部の水系媒体は、ポンプによって連続して、又は任意の時期に円筒内部から排出される。

なお、ろ過手段を用いる場合では、ろ過手段には前記汚染物や前記菌体破砕物等の固形物が捕集されることから、ポンベやブロー等の適当な手段を用いてろ過手段の表面に空気等の気体を供給すると、収容物中の固形物による目詰まりを防止する上で好ましい。

また、本発明の汚染物の浄化システムは、好ましくは、前記汚染物の発生源を隔離する隔離手段と、汚染物の発生源の汚染物を少なくとも水に含ませて汚染物を含有する流体を生成する流体生成手段と、汚染物を含有する流体を反応槽に向けて搬送する流体搬送手段とを有する。なお、本発明において汚染物の発生源とは、汚染物の集合物や汚染物が付着している物等をいう。このような汚染物の発生源としては、例えばダイオキシン類を含有する土壌、飛灰が付着している焼却炉やその周辺設備、汚染物の処理に伴って汚染物が付着した機器等が挙げられる。

前記隔離手段は、汚染物の発生源を隔離し、汚染物の周辺への飛散を防止する手段であれば特に限定されない。隔離手段は、汚染物の発生源の形態に応じて選択することができる。このような隔離手段としては、例えば汚染土壌の表面に被

せられる気密なシートや、気密なシートと、このシートを支持するアーチ状の土壌を覆う骨材とを有し前記構造物を覆う建屋等が挙げられる。前記骨材は、建屋を形成するのに十分な強度を有するものであれば良く、このような骨材には、鉄骨等の公知の骨材を用いることが可能である。また、前記隔離手段には、気密なシートで形成された細長な袋に加圧空気を封入したものをを用いることができ、このような細長な袋によって建屋の屋根や壁あるいは前記骨材を構成することが可能である。

前記流体生成手段は、汚染物の発生源の汚染物を少なくとも水に含ませて汚染物を含有する水スラリー等の流体を生成する手段であれば特に限定されない。このような流体生成手段としては、例えば、汚染土壌と水系媒体とを混合するための槽や、汚染物の発生源に少なくとも水を噴射して汚染物を洗い流す汚染物洗浄手段等が挙げられる。また、前記汚染物洗浄手段としては、例えば、水を高圧で噴射する手段や、噴射される水に砥粒を導入して高圧で噴射する手段等が挙げられる。

前記流体搬送手段は、汚染物を含有する流体を反応槽に向けて搬送する手段であれば特に限定されない。このような流体搬送手段としては、例えばポンプが挙げられる。

本発明の汚染物の浄化システムは、前述した手段等以外の他の手段を有していても良い。このような他の手段としては、例えば、反応槽における汚染物の浄化の効率を高めるのに好適な手段や、前記隔離手段によって隔離された汚染物の発生源からの汚染物の飛散を防止するのに好適な手段や、反応槽から排出された水系媒体を浄化するのに好適な手段等が挙げられる。このような他の手段は、いずれも公知技術を利用して実現することが可能である。

前記反応槽における汚染物の浄化の効率を高めるのに好適な手段としては、例えば、汚染物と前記菌体破碎物とを予め混合するための予備混合槽、反応槽中の収容物を混合するための攪拌手段、加熱装置を有し反応槽中の収容物の温度を調整する温度調整手段、反応槽中の汚染物を排出するためのスラリーポンプ等の汚染物排出手段等が挙げられる。

前記加熱装置は、反応槽中の収容物を加熱することが可能な装置であれば特に

限定されない。このような加熱装置としては、例えば、槽の底面及び側面に敷設した電気ヒータや、槽の側板を二重構造にしたジャケットやパイプ又はチューブで構成したジャケットと、このジャケットを循環する温水を発生させる温水発生器等が挙げられる。

前記隔離手段によって隔離された汚染物の発生源からの汚染物の飛散を防止するのに好適な手段としては、例えば、前記隔離手段内部の空気を外部に排出するための排気手段、隔離手段内部から排出される空気中の汚染物質を除去する空気浄化手段、隔離手段内部の気圧を隔離手段外部の気圧に対して負圧に調整する差圧調整手段等が挙げられる。

前記反応槽から排出された水系媒体を付加的に浄化するのに好適な手段としては、例えば、前記ろ過手段から取り出された水系媒体を処理する限外ろ過器や活性汚泥槽等の排水処理手段等が挙げられる。

本発明の汚染物の浄化方法は、ダイオキシン類を含有する汚染物中のダイオキシン類を分解して汚染物を浄化する方法において、前記塩素化芳香族化合物の存在下で培養されたバチルス・ミドウスジの菌体膜を含む菌体破碎物等と前記汚染物と水系媒体とを混合する。

前記菌体破碎物等と前記汚染物と前記水系媒体との混合は、その時期や混合の順序については特に限定されないが、ろ過手段を用いる場合では、ろ過手段の表面に空気を供給する以前であることが好ましい。本発明では、菌体破碎物と汚染物と水系媒体との全てを同時に混合しても良いし、これらを順に混合しても良い。また、前記混合を行う手段は特に限定されない。例えば、本発明では、攪拌手段等のように混合のための手段を用いても良いし、ろ過手段の表面に供給する空気の気泡を利用して混合しても良い。

前記混合物は、汚染物中のダイオキシン類が菌体破碎物等によって分解可能に混合されている組成物であれば特に限定されない。このような混合物としては、例えば、多量の水系媒体を含む水スラリーや、少量の水系媒体を含む湿った粉体物等が挙げられる。本発明では、汚染物の飛散を防止し、かつ容易に搬送する観点から、前記混合物は水スラリーであることが好ましい。

本発明の浄化方法では、好ましくは、混合物中から固形物と水系媒体とを分離し、固形物を取り除かれた水系媒体を取り出す。固形物を取り除かれた水系媒体の取り出し方は、特に限定されない。例えば、本発明では、連続して水系媒体を取り出しても良いし、断続的に水系媒体を取り出しても良いし、水系媒体の供給当初から水系媒体を取り出し始めても良いし、水系媒体の追加供給に応じて水系媒体を取り出しても良い。

本発明の浄化方法では、好ましくは、汚染物の発生源を隔離し、隔離した汚染源から発生した汚染物を水に含ませ、この汚染物を含む水に菌体破砕物等を混合する。

汚染物を水に含ませる場合には、特に特別な手段を用いなくとも良く、例えば汚染物の発生源の洗浄排水や汚染物の発生源の解体作業現場からの排水を利用することができる。汚染物を含む水を得る方法としては、例えば汚染物の発生源に水を高圧で噴射して汚染物を洗い流す高圧水洗工法や、汚染物の発生源に水と砥粒を高圧で噴射して汚染物を洗い流す湿式のサンドブラスト工法等が挙げられる。

本発明の浄化方法では、汚染物中のダイオキシン類の量が規制値を下回った時点を終点とすることができる。汚染物中のダイオキシン類の量は、J I S K O 3 1 1 や J I S K O 3 1 2 に定められているGC/MS法で測定することが可能であるが、後に説明する酵素免疫測定法を利用することが、ダイオキシン類を迅速に定量する上で好ましい。このような酵素免疫測定法には、市販の分析キットを利用することができ、このような分析キットとしては、例えばエコアッセイダイオキシン（E L I S Aキット、大塚製薬社製）が挙げられる。ただし、前記酵素免疫測定法は、水系媒体の組成が検出結果に影響を与えることから、水系媒体の組成に応じた検量線を予め作成し、これを利用して汚染物中のダイオキシン類を定量することが好ましい。

以下、前記酵素免疫測定法について説明する。

<本発明に好適に用いられるダイオキシン類の定量法>

本定量法は、ダイオキシン類を認識するポリクロナール抗体を固定した光透過性の固定相に、ビオチンで標識した既知濃度のビオチン標識ダイオキシン溶液と、

未知濃度の試料とを作用させ、抗体と反応したビオチン標識ダイオキシンを発色させて、競合反応を利用して試料中のダイオキシンの濃度を測定する。本定量法では、ビオチン標識ダイオキシンの代わりにビオチン標識された 2, 3, 7-トリクロロジベンゾ-p-ダイオキシン (2, 3, 7-TCDD) が好適には用いられる。

具体的には、エコアッセイダイオキシン (ELISAキット、大塚製薬社製) を用い、固定相プレートの各ウェルを 300 μ L の洗浄液で三回洗浄し、50 μ L の既知濃度のビオチン標識ダイオキシン溶液と 50 μ L の定量対象の試料とを各ウェルに加え、各ウェルにおいてこれらの溶液を振動等によって攪拌し、固定相プレートを密閉し、4℃で 20 時間反応させる。反応後に各ウェルを洗浄液で三回洗浄し、各ウェルに 100 μ L の酵素標識ストレプトアビジン (ペルオキシターゼ) を加え、固定相プレートを密閉して室温で 2 時間反応させる。反応後に各ウェルを洗浄液で三回洗浄し、各ウェルに 100 μ L の酵素反応基質液を加え、固定相プレートを密閉して室温で 20 分間、暗所にて反応させる。各ウェルの反応時間が正確に 20 分間になるように、酵素反応基質液の分注時間を調整する。波長が 450 nm の光の各ウェルの吸光度を測定する。この定量法によれば、4.1 ng/mL ~ 1,000 ng/mL の測定範囲で試料中のダイオキシンの量を定量することができる。ただし反応温度や反応時間は、ダイオキシンの種類によって多少異なる。

前記定量対象の試料に、種々の既知濃度のダイオキシン類を含有する試料を用いると、検量線を作成することが可能である。また、前記定量対象の試料に、既知濃度のダイオキシン類を含有し、異なる濃度の各種添加物を含有する試料を用いると、これらの添加物による測定結果への影響が反映された検量線を作成することが可能である。また、前記定量対象の試料に、異なる種類のダイオキシンを含有する既知濃度の試料を用いると、ダイオキシン類の種類ごとの 2, 3, 7-TCDD に対する感度が求められる。本定量法によれば、2, 3, 7, 8-テトラクロロジベンゾ-p-ダイオキシン (2, 3, 7, 8-TCDD) は、2, 3, 7-TCDD とほぼ同等の感度を有する。したがって、本定量法の結果は、得られた数値にダイオキシン類の種類による感度の割合を乗じ、2, 3, 7, 8-T

CDD相当量として表記することが可能である。

本発明の浄化方法は、前述した本発明の汚染物の浄化システムを用いて実施することが可能であるが、混合物や汚染物の発生源の形態によっては、他の様々な手段を用いて実施することも可能である。本発明の浄化方法に適用される他の手段としては、例えば特開2002-301466号公報に記載されている汚染物の浄化装置等が挙げられる。

また、本発明の浄化方法は、汚染物の発生源が土壌である場合では、前述した反応槽を用いず、汚染土壌を隔離手段で隔離し、隔離手段内部において前記菌体破砕物を汚染土壌に散布し、スクリー式の攪拌機等の攪拌手段によって前記汚染土壌を攪拌して実施することも可能である。

以上の説明から明らかなように、本発明の汚染物の浄化システム及び浄化方法は、廃棄物焼却施設等のダイオキシン類が発生する施設の改良前の洗浄作業や解体作業、又はこのような施設の跡地の土壌改良等から発生する、種々の形態の汚染物に適用することができる。

また、本発明は、ダイオキシン類分解用製剤であり、前記塩素化芳香族化合物の存在下で培養されたバチルス・ミドウスジの菌体膜を含む菌体破砕物又はその分画物からなるダイオキシン類分解用製剤を提供する。本発明のダイオキシン類分解用製剤は、前述した御堂筋菌の菌体の破砕や、菌体の破砕によって得られた菌体破砕物からのたんぱく質の抽出又は分離によって調製することができる。

本発明のダイオキシン類分解用製剤は、前記菌体破砕物等をそのまま、又は前述した担体に担持させた形態で用いることができる。本発明のダイオキシン類分解用製剤は、ダイオキシン類を含有する汚染物の形態、この汚染物中のダイオキシン類の種類、分解反応時の温度、及びダイオキシン類分解用製剤の形態等の種々の条件に応じた適当量がダイオキシン類の分解に用いられる。

本発明は、ダイオキシン類を含有する汚染物中のダイオキシン類を分解して汚染物を浄化するにあたり、芳香族環に結合する酸素原子を有する置換基と芳香族環に結合するクロロ基とを有する塩素化芳香族化合物の存在下で培養されたバチ

ルス・ミドウスジの菌体膜を含む菌体破砕物等と汚染物と水系媒体とを混合することから、汚染物中の3塩素化以上のダイオキシン類を分解することができ、かつ焼却施設の洗浄作業や解体作業等のダイオキシン類が発生する現場において、汚染物を容易に浄化することができる。

また、本発明では、混合物中から固形物と水系媒体とを分離し、固形物を取り除かれた水系媒体を取り出すと、菌体破砕物等と汚染物との接触性を制御し、汚染物の浄化効率を高める上でより一層効果的である。

また、本発明では、汚染物の発生源を隔離し、隔離した汚染源から発生した汚染物を水に含ませ、この汚染物を含む水に菌体破砕物等を混合すると、汚染物の発生源及び汚染物の搬送途中における汚染物の飛散を防止し、焼却炉の解体や焼却施設の跡地の土壌改良等の現場において、ダイオキシン類を含有する汚染物を浄化する上でより一層効果的である。

また、本発明では、汚染物の発生源に水を高圧で噴射して汚染物を洗い流す高圧水洗工法、又は汚染物の発生源に水と砥粒を高圧で噴射して汚染物を洗い流す湿式のサンドブラスト工法で排出される、汚染物を含む水スラリーに、菌体破砕物等を混合すると、焼却炉の解体や焼却施設の改良工事の際に、これらの設備に付着している汚染物の洗浄排水をそのまま汚染物の浄化に利用し、簡易な構成によって汚染物を現場で浄化する上でより一層効果的である。

また、本発明は、ダイオキシン類分解用製剤であり、前記塩素化芳香族化合物の存在下で培養されたバチルス・ミドウスジの菌体膜を含む菌体破砕物又はその分画物からなるダイオキシン類分解用製剤であることから、汚染物中の3塩素化以上のダイオキシン類を分解することができ、かつ焼却施設の洗浄作業や解体作業等のダイオキシン類が発生する現場において、汚染物を容易に浄化することができる新規なダイオキシン類分解用製剤を供給することができる。

図面の簡単な説明

図1は、本発明の一実施の形態である汚染物の浄化システムの全体構成を示す図である。

図 2 は、図 1 に示す浄化システムに用いられる排気装置の構成を概略的に示す図である。

図 3 は、図 1 に示す浄化システムに用いられる浄化装置 1 の構成を概略的に示す図である。

図 4 は、本実施の形態で用いられる、芳香族環に結合する酸素原子を有する置換基と芳香族環に結合するクロロ基とを有する塩素化芳香族化合物の存在下で培養された御堂筋菌の菌体膜を含む菌体破砕物を調製する装置の構成を概略的に示す図である。

図 5 は、ダイオキシン類の分解部位及び菌体破砕物の種類の検討において使用した化合物を 360 nm の波長の光で励起させたときの、波長が 450 nm のそれぞれの蛍光の強度を示す図である。

図 6 は、ダイオキシン類の分解部位及び菌体破砕物の種類の検討において、様々な条件で得られた反応液をシリカプレートに点着して展開したときのスポットを示す図である。

図 7 は、ダイオキシン類の分解部位及び菌体破砕物の種類の検討において、スポット X が得られる条件の中で反応条件を変えた反応液をシリカプレートに点着して展開したときのスポットを示す図である。

好ましい態様の説明

本発明の一実施の形態における汚染物の浄化システムとして、排水の浄化処理能力が 5 m³/日規模の浄化システムを以下に示す。

本実施の形態における浄化システムは、図 1 に示すように、解体、高圧洗浄作業現場 100 と、車両、機材洗浄作業現場 101 と、汚染物の浄化装置 1 とを有する。

解体、高圧洗浄作業現場 100 は、解体や高圧洗浄が行われる施設を覆う隔離建屋 102 と、隔離建屋 102 で生じる排水が集まる排水ピット 103 と、排水ピット 103 の排水を車両、機材洗浄作業現場 101 に送るポンプ 104 と、隔離建屋 102 の内部の空気を外部に放出する排気装置 105 とによって構成され

ている。

車両、機材洗浄作業現場 101 は、車両や機材の洗浄が行われる施設を覆う隔離建屋 106 と、隔離建屋 106 で生じる排水及びポンプ 104 から送られる解体、高圧洗浄作業現場 100 の排水が集まる排水ピット 107 と、排水ピット 107 の排水を汚染物の浄化装置 1 に送るポンプ 108 と、隔離建屋 106 の内部の空気を外部に放出する排気装置 109 とによって構成されている。

隔離建屋 102 及び 106 は、半円形の鉄骨等の骨材を樹脂製や布製の気密なシートで覆う構造の半円柱状の建屋である。隔離建屋には、樹脂製や布製で細長に形成されている気密な袋に加圧空気を導入して膨らませて屋根や骨材や壁等が構成されてなる建屋を用いることも可能である。

排気装置 105 及び 109 は、例えば図 2 に示すように、中性能フィルタ 114、自動弁 115 及びファン 117 が設けられ、隔離建屋の内部の空気を外部に放出するための空気放出通路 118 によって構成されている。自動弁 115 は、例えば隔離建屋内の気圧と大気圧との差圧を検出する図示しない差圧計に接続され、この差圧計の検出結果に応じて隔離建屋内部の気圧を大気圧に対して負圧に保つ弁である。隔離建屋からの排気量は、例えばファンの出力及び自動弁の開度によって制御される。

汚染物の浄化装置 1 は、ポンプ 108 から送られる排水中から砥粒や瓦礫等の比較的粒径の大きい固形物を除去するためのメッシュスクリーン 2 と、メッシュスクリーン 2 によって大きな粒径の固形物が除去された排水を収容する原水槽 3 と、熱媒が循環するジャケットを有しポンプ 4 を介して送られる原水槽 3 の排水を収容する反応槽 5 と、反応槽 5 に収容された排水に空気を供給するブロー 6 と、反応槽 5 に収容された排水から小さな粒径の固形物が除去された排水を取り出すための液中膜 7 と、ポンプ 8、流量計 9 及び排水口 10 を介して液中膜 7 から取り出された排水が送られる限外ろ過器 11 と、限外ろ過器 11 でろ別された固形物を収容する活性汚泥槽 12 と、活性汚泥槽 12 に空気を供給するブロー 13 と、反応槽 5 のジャケットに接続されジャケット内の熱媒を加熱する加熱装置 14 と、反応槽 5 の底部に堆積した固形物を吸引して活性汚泥槽 12 に送るポンプ 15 と、所定の水位以上の反応槽 5 の排水を原水槽 3 に戻すオーバーフローライン 16 と

によって構成されている。

原水槽 3 は、直径が 2.2 m であり、高さが 2 m であり、容積が 5 m^3 の槽である。ポンプ 4 及び 8 は、送液能力が $5 \text{ m}^3/\text{h}$ のポンプである。反応槽 5 は、直径が 3 m であり、高さが 2 m であり、容積が 10 m^3 の槽である。ブローア 6 は、送風能力が $25 \text{ m}^3/\text{h}$ のブローアである。反応槽 5 のジャケットを循環する熱媒は、反応槽 5 に収容された排水の温度を任意に調整することが可能な熱媒として例えば温水が用いられる。

ブローア 6 は、液中膜 7 の直下の反応槽 5 の底部に空気を供給する。液中膜 7 は、反応槽 5 が排水を収容したときに水没する位置に設けられている。液中膜 7 は、精密ろ過器の一種であり、 $50 \sim 0.03 \mu\text{m}$ の細孔分布を有するポリエチレン製の多孔質膜や、親水性の中空糸膜で周面及び端面が形成された中空の円柱体である。

限外ろ過器 11 は、例えば $0.3 \mu\text{m} \sim 0.001 \mu\text{m}$ の細孔分布を有するポリアクリロニトリル共重合体のフィルタによって構成されている。活性汚泥槽 12 には、例えばたんぱく質等の有機物を分解する好気性の微生物が収容されている。活性汚泥槽 12 は、直径が 2.2 m であり、高さが 2 m であり、容積が 5 m^3 の槽である。ブローア 13 は、送風能力が $1 \text{ m}^3/\text{h}$ のブローアである。

次に、前述した浄化システムを用いて、解体、洗浄作業現場等で発生する、ダイオキシン類を含有する汚染物を浄化する方法を説明する。まず、汚染物の浄化に用いられる御堂筋菌の菌体膜を含む菌体破砕物の調製について説明する。菌体破砕物は、御堂筋菌を工場等で大量に培養し、得られた御堂筋菌の菌体を破砕、分離することによって得られる。

前記菌体破砕物の調製には、例えば図 4 に示す装置が用いられる。この装置は、液体培地、飛灰、菌株等を収容する培養槽 20 と、培養槽 20 中の収容物に水没するドラフトチューブ 21 と、ドラフトチューブ 21 に空気を供給するブローア 22 と、培養槽 20 に設けられたジャケットを循環する熱媒を加熱し、培養槽 20 中の収容物の温度を御堂筋菌の活動可能な温度に制御するための加熱装置 23 と、培養槽 20 からの排気を循環する冷媒によって冷却する冷却器 24 と、冷却器 24 を循環する冷媒を冷却する冷却装置 25 と、冷却器 24 で冷却された排気から

気体とミストとを分離する気液分離器 26 と、気液分離器 26 で分離された排気中のダイオキシン類を排気中から除去する除去装置 27 と、御堂筋菌の菌体破砕物から菌体膜を含む菌体破砕物を分離する超遠心分離機 28 と、気液分離器 26 で分離された液体を培養槽 20 に戻すラインを開閉する二方弁 29 とによって構成されている。

培養槽 20 は、直径が 0.5 m であり、高さが 1 m であり、容積が 0.1 m³ の槽である。ドラフトチューブ 21 は、培養槽 20 中の収容物と空気とを混合し、培養槽 20 中の収容物に気泡の対流を形成する管であり、培養槽 20 内における気液接触を促進し、培養槽 20 中の収容物の溶存酸素濃度を最大限に維持し、液体培地の攪拌を促進する目的で設置されている。ブローア 22 は、送風能力が 6 m³/h のブローアである。加熱装置 23 は、加熱容量が 12 kW の加熱装置である。冷却器 24 は、プレート型熱交換器で構成されている。気液分離器 26 は、サイクロン型の気液分離器である。除去装置 27 は、活性炭が充填された吸着器である。

まず、培養槽 20 に 0.1 m³ の水が投入される。次にブローア 22 から培養槽 20 にドラフトチューブ 21 を介して空気が供給される。培養槽 20 中の水は、御堂筋菌の至適温度である 65℃ に加熱装置 23 によって加熱される。培養槽 20 の水の温度は、65℃ を制御目標値として、収容物の温度の計測値と制御目標値との偏差に基づいて、ジャケットを循環する熱媒の流量を PID 動作又は二位置動作によって制御される。

培養槽 20 内の水の温度が 65℃ に維持されると、培養槽 20 内からは、水蒸気と、気泡の消滅により発生するミストとが排気中に同伴して排出される。冷却装置 25 は、冷却器 24 を循環する冷媒を 15℃ 程度に冷却し、排出された水蒸気は冷却器 24 によって冷却されて水として培養槽 20 に戻される。ミストは、気液分離器 26 によって排気中から分離され、培養槽 20 に水として戻される。気液分離器 26 にたまった水分は、ブローア 22 の停止と連動して二方弁 29 を開放することにより培養槽 20 に戻される。ブローア 22 の停止、すなわち培養槽 20 内における微生物の活動の停止と二方弁 29 の開放とを連動させることにより、気液分離器 26 から水分を培養槽 20 に戻すときの水分や、液体培地等の培養槽

20中の収容物の逆流が防止される。

気液分離器26によって水分がある程度除去された排気は、除外装置27に送られる。除外装置27は、排気中にダイオキシン類等の微量の有機物が含まれる場合には、これらの有機物を吸着し、これらの有機物が除去された排気を大気に放出する。

培養槽20中の水が65℃に維持されたら、ブローア22による空気の供給を一旦停止し、Soybean Casein Digest Broth培地、ダイズタンパクや糖蜜等を培養槽20に投入して液体培地を調整する。次にダイオキシン類の供給源としての飛灰、御堂筋菌の新鮮培養菌株、DMSO、 Ca^{2+} 、イースト、ゼオライト、pH調整剤等を培養槽20に投入し、ブローア22の運転を再開する。なお、本例では、御堂筋菌の新鮮培養菌株には、バチルス・ミドウスジ SH2B-J2株を用いるものとする。

なお、御堂筋菌の栄養源である培地の培養槽20中の濃度は、3質量%以上では、培地の濃度に対する御堂筋菌の増殖の効果がごくわずかであることから、液体培地の培養槽20中の濃度は3質量%以上とする。

また、御堂筋菌のエネルギー代謝を促進して増殖反応を活性化するカルシウムイオンの培養槽20中の濃度は、50mmol/L以上では、カルシウムイオンの濃度に対する御堂筋菌の増殖活性の効果がごくわずかであることから、カルシウムイオンの培養槽20中の濃度は50mmol/L以上とする。

また、プロテアーゼ活性を阻害することによって御堂筋菌の溶菌阻止に作用するDMSOの培養槽20中の濃度は、30mL/L以上で御堂筋菌の成長阻害が見られることから、DMSOの培養槽20中の濃度は30mL/L（3%）とする。

以下、同様に各種添加物の培養槽20中の濃度や各種条件とその効果とを検討することにより、培養槽20において、ダイオキシン類（飛灰）の存在下でSH2B-J2株を培養する条件を以下の通りとする。

<培養条件>

至適温度

65℃

pH制御範囲	6.0～7.5
御堂筋菌の初期投入濃度	1×10^7 個/mL
液体培地濃度	3 質量%以上
Ca ²⁺ 添加濃度	50 mmol/L以上
DMSO添加濃度	30 mL/L (3%)
ゼオライト添加濃度	50 g/L以上
培養時間	3～4 時間
飛灰添加濃度	1 g/L

前述した培養装置を3～4時間運転して御堂筋菌を培養する。培養槽20中の収容物中の溶存酸素濃度と収容物中の糖濃度とを培養開始時から測定し、これらの測定結果から御堂筋菌の培養の進行状況を判断する。溶存酸素濃度は、御堂筋菌の培養が正常に進行している場合では、対数増殖期の後期において溶存酸素濃度が極端に低下する現象が観察される。また、糖濃度は、御堂筋菌の培養が正常に進行している場合では、御堂筋菌の増殖に伴い対数的に減少する現象が観察される。

前述した現象から御堂筋菌の培養の終点を判断したら、御堂筋菌の菌体を破壊する。御堂筋菌の菌体の破壊は、細胞膜分解酵素を培養槽20に投入するか、又は超音波振動等によって細胞を破碎する細胞破碎機によって菌体を破壊する。得られた菌体の破碎物は、超遠心分離機28によって、下層から飛灰や培地等の夾雑物と、細胞質を含む菌体破碎物である細胞質タンパクと、菌体膜を含む菌体破碎物である菌体膜タンパクとに分離される。

次に、得られた菌体破碎物を用い、前述した汚染物の浄化装置1を用いて、施設の解体や洗浄に伴って排出される、ダイオキシン類を含有する汚染物の浄化について説明する。

解体、洗浄作業現場100の隔離建屋102内では、例えばダイオキシン類を含有する汚染物の発生源である焼却炉を高圧水洗工法や湿式のサンドブラスト工法によって洗浄し、又は洗浄後の焼却炉をワイヤーソーイング工法によって解体する作業が行われ、ダイオキシン類を含有する汚染物を含む排水が排出される。

解体、洗浄作業現場 100 の排水は、排水ピット 104 に集められ、車両、機材洗浄作業現場 101 に送られる。

車両、機材洗浄作業現場 101 の隔離建屋 106 内では、例えば解体、洗浄作業現場 100 で利用したベルトコンベア等の搬送機器やブルドーザ等の作業用車両を水洗する作業が行われ、ダイオキシン類を含有する汚染物を含む排水が排出される。車両、機材洗浄作業現場 101 の排水は、解体、洗浄作業現場 100 の排水と合わさって排水ピット 108 に集められ、汚染物の浄化装置 1 に送られる。

解体、洗浄作業現場における洗浄、解体対象の施設は、隔離建屋 102 によって周囲に対して隔離されており、車両、機材洗浄作業現場における洗浄用の施設は、隔離建屋 106 によって周囲に対して隔離されている。また、隔離建屋 102 及び 106 内の気圧は、排気装置 105 及び 109 によって大気圧に対して負圧に維持されている。したがって、ダイオキシン類を含有する飛灰等の汚染物が、隔離建屋 102 及び 106 から大気中に放出されることが防止される。

車両、機材洗浄作業現場 101 から送られた排水は、メッシュスクリーン 2 に供給される。メッシュスクリーン 2 は、供給される排水中から、例えば湿式のサンドブラスト工法で用いた砥粒や、解体作業に伴って排出された瓦礫等のような比較的大きな粒径の固形物を除去する。このような固形物が除去された排水は、原水槽 3 に送られる。原水槽 3 の水位は、電極式のレベル計で計測され、ポンプ 108 の運転によって低位と高位との間に維持される。なお、送られた排水が、たんぱく質の変性を引き起こすような物性の排水である場合は、原水槽 3 において、排水の物性を適当な添加剤の添加等によって調整しても良い。

原水槽 3 に送られた排水は、ポンプ 4 によって反応槽 5 に送られる。反応槽 5 の水位は、電極式のレベル計で計測され、反応槽 5 に過剰に供給された排水は、オーバーフローライン 16 を介して原水槽 3 に戻される。

反応槽 5 に収容された排水は、加熱装置 14 によって加熱された温水が供給されるジャケットによって適温に加熱される。また、反応槽 5 には、ダイオキシン類や塩素化フェノール等の前記塩素化芳香族化合物の存在下で培養された御堂筋菌の菌体膜を含む菌体破碎物が供給される。また、反応槽 5 にはブローア 6 から空気が供給される。このようにして反応槽 5 では、菌体破碎物によるダイオキシン

類の分解が行われる。

なお、菌体膜を含む菌体破砕物の分離の際に得られる細胞質を含む菌体破砕物等の他の菌体破砕物や培地や飛灰等の夾雑物を、菌体膜を含む菌体破砕物とともに反応槽 5 に供給し、又は他の菌体破砕物や夾雑物を原水槽 3 に供給して、菌体膜を含む菌体破砕物の分離で得られる他の菌体破砕物等を、ダイオキシン類の分解処理に供しても良い。

反応槽 5 中の排水及び菌体破砕物の混合物は、ブローア 6 から供給される空気によって攪拌される。ブローア 6 から供給された空気は、細かな気泡となって液中膜 7 の表面に沿って上昇する。菌体破砕物によるダイオキシン類の分解が進行するにつれて、混合物は褐色を呈し、またその色合いを増していく。

反応槽 5 において、菌体破砕物によるダイオキシン類の分解反応を 18 時間以上行った後、反応槽 5 中の混合物中のダイオキシン類の量を 2, 3, 7, 8-T CDD 相当量として前記酵素免疫測定法によって測定し、ダイオキシン類の量が排水基準値を十分に満足することを確認し、ポンプ 8 を運転して液中膜 7 により混合物から $0.4 \mu\text{m}$ 以上の無機及び有機の固形物をろ過し、排水口 10 から浄化水として下水に放流する。

液中膜 7 による混合物のろ過では、液中膜 7 には混合物中の固形物がろ過されるが、一方でブローア 6 は液中膜 7 の直下から空気を供給することから、ブローア 5 から供給される空気の気泡は、液中膜 7 の表面に沿って上方に移動するので、液中膜 7 の目詰まりが防止される。

液中膜 7 のメンテナンスを行う場合や、さらに清浄な排水を要する場合では、排水口 10 に送られた排水は限外ろ過器 11 に送られる。限外ろ過器 11 に送られた排水は、限外ろ過器 11 のろ過膜の表面に沿って流れながら膜を浸透し、さらに小さな粒径の固形物が除去された排水が得られる。得られた排水は浄化水として下水に放流される。

反応槽 5 の底部に堆積した固形物（汚泥）は、ポンプ 15 の運転によって活性汚泥槽 12 に供給される。また、限外ろ過器 11 で分離された固形物も活性汚泥槽 12 に供給される。活性汚泥槽 12 内にはブローア 13 から空気が供給され、活性汚泥槽 12 内は好気性の環境が維持されている。活性汚泥槽 12 では、たんば

く質や培地等の有機系の夾雑物が微生物の活動によって分解される。活性汚泥槽 1 2 における汚泥の蓄積量は監視され、蓄積した汚泥は活性汚泥槽 1 2 から適宜搬出される。搬出された汚泥は、例えばエコセメントとして再生される。

本実施の形態によれば、前記塩素化芳香族化合物の存在下で培養されたバチルス・ミドウスジの菌体膜を含む菌体破砕物とダイオキシン類を含有する汚染物と水系媒体とが混合される。この菌体破砕物は、ダイオキシン類に特徴的な構造である、二つのベンゼン環を結合するエーテル結合を切断することから、白色腐朽菌等のダイオキシン類分解活性を有する微生物では困難とされている、3 塩素化以上のダイオキシン類を分解することが可能である。

また、本実施の形態によれば、ダイオキシン類の分解に前記菌体破砕物を用いることから、微生物を用いる浄化方法に比べて、温度や塩濃度等の浄化環境に影響されにくい。例えば前記菌体破砕物は、御堂筋菌の活動可能温度よりも低い温度でダイオキシン類を分解することが可能であり、また高い塩濃度の環境においてもダイオキシン類を分解することが可能である。したがって、焼却施設の洗浄作業や解体作業等のダイオキシン類が発生する現場において、汚染物を容易に浄化することが可能である。

また、本実施の形態によれば、ダイオキシン類の分解に、ダイオキシン類の分解に作用する前記菌体破砕物が用いられる。微生物を用いる場合では、微生物の生存及び増殖が汚染物の浄化に影響し、加える微生物の量に対してダイオキシン類の分解が定量的に行われない場合があるが、本実施の形態では、前記菌体破砕物の添加量によってダイオキシン類の分解を定量的に行うことができ、汚染物を容易に浄化することが可能である。

また、本実施の形態によれば、液中膜 7 によって固形物が取り除かれた水系媒体が取り出されることから、反応槽 5 中のスラリー濃度を容易に制御することができ、効率よく汚染物を浄化することができる。

また、本実施の形態によれば、汚染物の発生源が隔離建屋によって周辺環境に対して隔離され、隔離建屋の内部において汚染物が水に含まれた状態で発生し、この水スラリーは汚染物の浄化に利用できることから、容易に汚染物の水スラリーを得ることができる。

また、本実施の形態によれば、汚染物の発生源が隔離建屋によって周辺環境に対して隔離され、発生した汚染物が水に含まれた状態で搬送されることから、汚染物の周辺環境への放出を防止することができる。

また、本実施の形態によれば、隔離建屋の内部の気圧が大気圧に対して負圧に制御されることから、例えば作業員の出入り等のように、外部に対してわずかに開かれる場合でも、隔離建屋の内部の空気が外部に漏出せず、汚染物の周辺環境への飛散を防止することができる。

また、本実施の形態によれば、加熱装置 14 を有することから、反応槽 5 中の收容物の温度を任意の時期に適宜調整することができる。したがって、反応槽 5 に前記菌体破砕物を投入する前の反応槽 5 中の排水を加熱して、排水中の雑菌を殺菌することが可能であり、排水中の雑菌による菌体破砕物の分解を防止することができる。

また、本実施の形態によれば、加熱装置 14 を有することから、菌体破砕物のダイオキシン類分解活性を高める観点で、分解対象のダイオキシン類の種類等に応じて分解反応時の反応槽 5 中の收容物の温度を制御することが可能であり、浄化物を効率よく分解することができる。

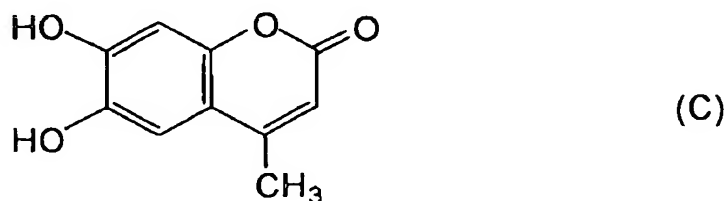
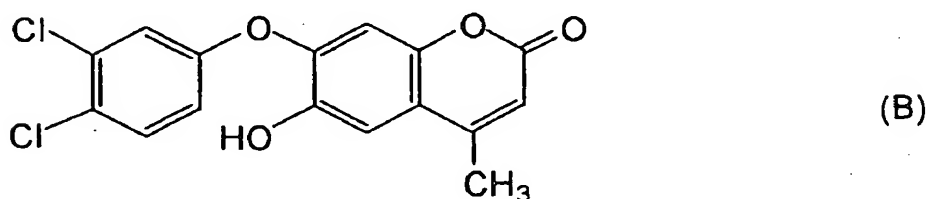
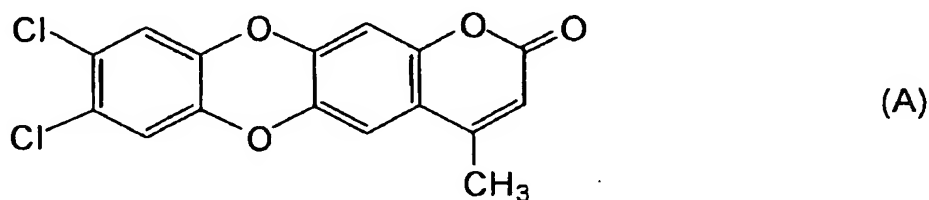
なお、ダイオキシン類等の前記塩素化芳香族化合物の存在下で培養された御堂筋菌の菌体の菌体破砕物のうち、どの部位の菌体破砕物がダイオキシン類を分解するのか、及びダイオキシン類のどの部位が分解されるかについて、本発明者らが行った検討を以下に示す。

<ダイオキシン類の分解部位及びダイオキシン類を分解する御堂筋菌の菌体の部位の検討>

御堂筋菌の菌体の菌体破砕物のうち、どの部位の菌体破砕物がダイオキシン類を分解するのか、及びダイオキシン類のどの部位が分解されるかを検証するために、ダイオキシン類の特徴的な構造を有するダイオキシン類様蛍光基質と、培養条件の異なる御堂筋菌の菌体の破砕物とを、異なる条件で反応させ、各条件におけるダイオキシン類の分解物の有無を検出した。なお、この方法は、中村雅哉氏による報文「新規ダイオキシン分解微生物のスクリーニング」（日本農芸化学大

会講演要旨集、P. 153、2001) や、特開2002-348291号公報に示されている。

まず、ダイオキシシン類に類似の構造を有するダイオキシシン類様蛍光基質（下記構造式A）を合成した。このダイオキシシン類様蛍光基質Aは、モノクロロベンゼンのベンゼン環と、蛍光物質である6,7-ジヒドロキシー-4-メチルクロメン-2-オン（下記構造式（C）、以下、この化合物を「エスクレチン様化合物という」）のベンゼン環とをエーテル結合によって結合することによって合成された物質であり、ダイオキシシン類に特徴的な、二つのベンゼン環を結合する二つのエーテル結合を有する構造を有する。



ダイオキシシン類様蛍光基質Aは、モノクロロベンゼンとエスクレチンCとを結合する二つのエーテル結合のうちの 하나가切断されると、下記構造式（B）に示す蛍光物質Bを形成し、前記二つのエーテル結合の二つが切断されると、エスクレチン様化合物Cを形成する。これら物質A～Cに対して360nmの波長の光

を照射すると、図5に示すように、ダイオキシン類様蛍光基質Aはほとんど蛍光を発しないが、蛍光物質B及びエスクレチン様化合物Cは励起し、波長が450 nmの強い蛍光を発する。

御堂筋菌には、グリセリン保存菌株をSoybean-Casein Digest Broth寒天平板培地上に白金耳で採取し、65℃で3時間培養した新鮮培養菌株を用いた。前記グリセリン保存菌株は、1995年に大阪市から初代のSH2B-J2株を分離しグリセリン中に懸濁して-85℃で凍結保存し、これを2001年にSoybean-Casein Digest Broth寒天平板培地で培養し、再度グリセリン中に懸濁して-85℃で凍結保存した菌株である。

前記新鮮培養菌株を小型定量白金耳で1白金耳採取し、50 mLのコニカルチューブ中の液体培地15 mLに全量を混合した。液体培地には、3質量%のSoybean-Casein Digest Brothと、0.3質量%のイーストを加えたもの（以下、この組成の液体培地を「液体培地A」という）を用いた。前記コニカルチューブを円盤式回転培養装置（TAITEC製）の円盤に放射状に装着し、前記コニカルチューブを継続して転倒させ、新鮮培養菌液を混和、調整した。前記装置による新鮮培養菌液の混和、調整は、65℃の雰囲気において20 rpmの回転数で2時間の条件で行った。

得られた15 mLの新鮮培養菌液と500 mLの液体培地Aを3 Lのフラスコに收容し、振とう装置（TAITEC製）を用いて御堂筋菌を培養した。御堂筋菌の培養は、65℃の雰囲気において190 rpmの回転数で水平方向に「8の字」回転を3時間行う条件で行った。なお、御堂筋菌の培養では、1 mg/mLの飛灰を添加した前記培養菌液と、飛灰を添加しない前記培養菌液の二種類を用いた。飛灰は焼却炉で採取されたものであり、この飛灰には、1 ng-TEQ/gのダイオキシン類が含まれている。

得られた培養菌液を直ちに氷冷し、遠心分離機（BECKMANN製）によって遠心分離した。この遠心分離は、4℃の雰囲気において4,300 Gで20分間の条件で行った。得られた菌体沈査を、液体培地Aを4倍に希釈した液体培地であり氷冷されている液体培地（以下、この液体培地を「液体培地B」という）に再懸濁し、50 mLのコニカルチューブに收容した。

得られた懸濁物を、遠心分離機（SAKUMA製）を用いて遠心分離し、菌体沈査を得た。この遠心分離は、4℃の雰囲気において、6,000rpmの回転数で10分間の条件で行った。

得られた菌体沈査を、15mLの液体培地Bに再懸濁し、得られた懸濁液に超音波破碎機（日本精機製作所製）を用いて、懸濁液中の御堂筋菌の菌体を破碎した。この超音波破碎は、20kHz、150Wで2分間の条件で氷冷しながら4回行った。破碎後の懸濁液を、遠心分離機（SAKUMA製）を用いて遠心分離し、未処理菌体沈査と上澄みを得た。この遠心分離は、4℃の雰囲気において6,000rpmの回転数で10分間の条件で行った。

得られた上澄みを、4mLずつ超遠心器用試験管に採取し、超遠心分離機（HITACHI製）を用いて遠心分離した。この遠心分離は、4℃の雰囲気において150,000Gで30分間の条件で行った。得られた沈査の上層部より菌体膜を含む菌体破碎物（以下、「菌体膜分画」ともいう）を採取し、得られた沈査の下層部より細胞質を含む菌体破碎物（以下、「細胞質分画」ともいう）を採取した。

7mLのネジ付きガラス試験管に、200μLの前記菌体膜分画又は細胞質分画と、700μLの液体培地Bとを加え、また100μgのダイオキシソニル類様蛍光基質Aを100μLのジメチルスルホキシド（DMSO）に溶かした液か、又は反応液における最終濃度が5質量%となるようにDMSOを加え、所定の温度で所定時間静置し、反応液を得た。

静置後、前記反応液に12規定の50μLの塩酸を加え、1mLの酢酸エチルを加えてよく攪拌し、遠心分離した。この遠心分離は、3,000rpmの回転数で20分間の条件で行った。得られた上澄みの酢酸エチル層を回収した。この操作を三回繰り返して、蒸発乾固した。得られた乾固物を酢酸エチルで再溶解し、この再溶解液をガラスキャピラリーで15μL採取し、薄層クロマトグラフィー用のシリカゲルプレートに点着し、展開溶媒で展開した。展開溶媒には、クロロホルムと酢酸エチルと蟻酸とを10:8:1の割合で混合した溶媒を用いた。

薄層クロマトグラフィーの結果を図6に示す。また、図6に示すシリカプレートの各レーンに点着した酢酸エチル溶液の条件を以下の表1に示す。

表 1

レーン	菌体破碎物の種類	培養条件	反応条件		ダイオキシン類様蛍光基質 A の有無
			反応時間	反応温度	
1	菌体膜	飛灰なし	5 日間	65℃	なし
2	菌体膜	飛灰なし	5 日間	65℃	あり
3	菌体膜	飛灰あり	18時間	65℃	なし
4	菌体膜	飛灰あり	18時間	65℃	あり
5	細胞質	飛灰あり	18時間	65℃	なし
6	細胞質	飛灰あり	18時間	65℃	あり
7	菌体膜	飛灰なし	18時間	65℃	なし
8	菌体膜	飛灰なし	18時間	65℃	あり
9	細胞質	飛灰なし	18時間	65℃	なし
10	細胞質	飛灰なし	18時間	65℃	あり

図 6 において、下部に示されるスポット (O) は再溶解液の点着位置であり、上部に示される大きなスポット (A) は展開したダイオキシン類様蛍光基質 A である。レーン 4 にのみ、スポット O とスポット A との間にスポット (X) が観察された。

また、飛灰を添加して培養した御堂筋菌の菌体膜分画とダイオキシン類様蛍光基質 A との反応条件を変えた場合における薄層クロマトグラフィーの結果を図 7 に示す。図 7 中のレーン 11 は、18℃で20分間反応させたときの再溶解液を展開させたものであり、レーン 12 は、65℃で18時間反応させたときの再溶解液を展開させたものである。図 7 は、レーン 12 ではレーン 11 よりも輝度の高いスポット X が観察されたことを示している。

以上のことから、スポット X に示される物質は、スポット X の位置及び薄層クロマトグラフィーの条件から、ダイオキシン類様蛍光基質 A よりも極性が高い物質であることが明らかとなった。また、スポット X に示される物質は、強い蛍光を発することから、蛍光物質 B 及びエスクレチン様化合物 C の少なくともいずれか一方又は両方、又はこれらに類似の化合物であると考えられる。また、スポット X に示される物質は、65℃で培養された御堂筋菌の菌体膜分画でより多く検出されることから、飛灰が添加された条件で培養された御堂筋菌の活動によって生じる物質が作用した物質であると考えられる。

また、スポットXをGC/MS法で測定したところ、スポットXに示される物質は、ナフトキノンの構造の物質であり、また硫酸基を有する構造の物質であることが明らかになった。したがって、スポットXに示される物質は、エスクレチン様化合物Cに類似の化合物であることが明らかになった。

これらの結果から、ダイオキシン類等の前記塩素化芳香族化合物の存在下で培養された御堂筋菌の菌体膜分画は、ダイオキシン類の構造で特徴的な、二つのベンゼン環を結合するエーテル結合を切断することが明らかとなった。

また、前記エーテル結合の切断は、御堂筋菌の活動が活発であるほど顕著であることから、御堂筋菌が産生する酵素によって行われているものと考えられる。前記GC/MS法の結果によれば、前記エーテル結合の切断に伴って硫酸基が導入されることから、前記エーテル結合の切断は、微生物にとっての異物を無害化するために生体防御反応によって産生される酵素であるグルタチオンS-トランスフェラーゼ又はアリールスルフトランスフェラーゼによって行われているものと考えられる。

また、菌体膜分画とダイオキシン類様蛍光物質Aとの反応では、反応液が全体的に褐色を呈し、反応に伴って色合いが増加することから、チクトローム系の鉄要求性の呼吸反応が進行しているものと考えられる。

クレーム

1. ダイオキシン類を含有する汚染物中のダイオキシン類を分解して前記汚染物を浄化するシステムにおいて、

芳香族環に結合する酸素原子を有する置換基と芳香族環に結合するクロロ基とを有する塩素化芳香族化合物の存在下で培養されたバチルス・ミドウスジの菌体膜を含む菌体破碎物又はその分画物、前記汚染物、及び水系媒体を少なくとも収容した反応槽を有することを特徴とする汚染物の浄化システム。

2. 前記反応槽中の収容物から水系媒体と固形物とを分離して水系媒体を取り出すためのろ過手段を有することを特徴とする請求項 1 記載の汚染物の浄化システム。

3. 前記汚染物の発生源を隔離する隔離手段と、前記汚染物の発生源の汚染物を少なくとも水に含ませて、汚染物を含有する流体を生成する流体生成手段と、前記汚染物を含有する流体を前記反応槽に向けて搬送する流体搬送手段とを有することを特徴とする請求項 1 記載の汚染物の浄化システム。

4. 前記汚染物の発生源を隔離する隔離手段と、前記汚染物の発生源の汚染物を少なくとも水に含ませて、汚染物を含有する流体を生成する流体生成手段と、前記汚染物を含有する流体を前記反応槽に向けて搬送する流体搬送手段とを有することを特徴とする請求項 2 記載の汚染物の浄化システム。

5. 前記流体生成手段は、前記汚染物の発生源に少なくとも水を噴射して汚染物を洗い流す汚染物洗浄手段であることを特徴とする請求項 3 記載の汚染物の浄化システム。

6. 前記流体生成手段は、前記汚染物の発生源に少なくとも水を噴射して汚染物を洗い流す汚染物洗浄手段であることを特徴とする請求項 4 記載の汚染物の浄化システム。

7. ダイオキシン類を含有する汚染物中のダイオキシン類を分解して前記汚染物を浄化する方法において、

芳香族環に結合する酸素原子を有する置換基と芳香族環に結合するクロロ基とを有する塩素化芳香族化合物の存在下で培養されたバチルス・ミドウスジの菌体

膜を含む菌体破砕物又はその分画物と前記汚染物と水系媒体とを混合することを特徴とする汚染物の浄化方法。

8. 前記混合物中から固形物と水系媒体とを分離し、固形物を取り除かれた水系媒体を取り出すことを特徴とする請求項7記載の汚染物の浄化方法。

9. 前記汚染物の発生源を隔離し、隔離した汚染源から発生した汚染物を水に含ませ、この汚染物を含む水に前記菌体破砕物又はその分画物を混合することを特徴とする請求項7記載の汚染物の浄化方法。

10. 前記汚染物の発生源を隔離し、隔離した汚染源から発生した汚染物を水に含ませ、この汚染物を含む水に前記菌体破砕物又はその分画物を混合することを特徴とする請求項8記載の汚染物の浄化方法。

11. 前記汚染物の発生源に水を高圧で噴射して汚染物を洗い流す高圧水洗工法、又は前記汚染物の発生源に水と砥粒を高圧で噴射して汚染物を洗い流す湿式のサンドブラスト工法で排出される、汚染物を含む水スラリーに前記菌体破砕物又はその分画物を混合することを特徴とする請求項9記載の汚染物の浄化方法。

12. 前記汚染物の発生源に水を高圧で噴射して汚染物を洗い流す高圧水洗工法、又は前記汚染物の発生源に水と砥粒を高圧で噴射して汚染物を洗い流す湿式のサンドブラスト工法で排出される、汚染物を含む水スラリーに前記菌体破砕物又はその分画物を混合することを特徴とする請求項10記載の汚染物の浄化方法。

13. ダイオキシン類分解用製剤であり、芳香族環に結合する酸素原子を有する置換基と芳香族環に結合するクロロ基とを有する塩素化芳香族化合物の存在下で培養されたバチルス・ミドウスジの菌体膜を含む菌体破砕物又はその分画物からなるダイオキシン類分解用製剤。

開示のアブストラクト

ダイオキシン類等の塩素化芳香族化合物の存在下で培養されたバチルス・ミドウスジの菌体膜を含む菌体破碎物と、焼却炉等の施設の洗浄によって生じ、ダイオキシン類を含有する飛灰等の汚染物を含む排水とを反応槽 5 に收容し、反応槽 5 中の收容物にブローア 6 によって空気を供給する。

これにより、汚染物中の 3 塩素化以上のダイオキシン類を分解することが可能であり、かつ焼却施設の洗浄作業や解体作業等のダイオキシン類が発生する現場において、汚染物を容易に浄化することができる。